

Universidade de Évora

Plantas aromáticas em ninhos de Chapim-azul – a “hipótese de protecção do ninho” revisitada



Bárbara Afonso Pires

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de
mestre em Biologia da Conservação

Orientador: Prof.^a Doutora Anabela Belo

Co-Orientador: Prof. Doutor João E. Rabaça

Évora, 2010

Esta dissertação inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri.

Universidade de Évora

Plantas aromáticas em ninhos de Chapim-azul – a “hipótese de
protecção do ninho” revisitada

Bárbara Afonso Pires

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de
mestre em Biologia da Conservação

Orientador: Prof.^a Doutora Anabela Belo

Co-Orientador: Prof. Doutor João E. Rabaça



185 692

Évora, 2010

Esta dissertação inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço às duas pessoas sem as quais este trabalho teria sido impossível: Prof. Doutora Anabela Belo e Prof. Doutor João Rabaça. Obrigada pela ideia, ajuda incansável, disponibilidade, apoio científico. Por terem tornado esta Dissertação possível.

À Divisão de Educação e Sensibilização Ambiental da Câmara Municipal de Lisboa, destacando a Verónica Bogalho por me ter ajudado no esclarecimento de dúvidas e resolução de problemas.

À equipa LxCRAS pelo apoio, dias que me disponibilizaram nas épocas de mais trabalho, por me aturarem meses a fio a falar da tese. Em especial ao Pedro Melo pela constante preocupação em como estava a correr o trabalho. Sem saberem ajudaram bastante. Muito obrigada!

Aos colegas do Verão de 2009 no CRAS que, sem saberem, me deram ajudas preciosas.

Aos meus colegas de Mestrado pelas alegrias, conversas e sempre boa-disposição.

À Rita Moreira pelo trabalho de campo que me proporcionou, as gargalhadas, as 'tolices', ... tudo isto teria sido muito mais difícil sem ti. Ao interesse que demonstrou desde cedo pelo meu trabalho. Pela amizade durante e após todo o processo. Muito obrigada por tudo.

Ao Nuno Luz pela ajuda sobrenatural com os ninhos quando eu e a Rita já não podíamos mais. Pelo transporte da cana. Pela preocupação e amizade.

À Dr.^a Maria João e ao Professor Artur Serrano pela ajuda prestada na identificação dos coleópteros e casulos.

A todos os amigos que estiveram comigo ao longo deste processo. Miriam, Dulce, Sasha, Cláudio e Diogo. Muito obrigada! Beppe, Raúl e Tomasz. Thank you!

À minha Família por terem sido pacientes nas longas conversas sobre Chapim-azul e plantas aromáticas.

Aos meus Pais pelo apoio incondicional, força, determinação que me incutiram ao longo dos anos. Pela paciência que mostraram ter mesmo nos dias em que eu estava "impossível". Pela ajuda nos transectos, nos piores dias de escrita e pelos conselhos de "respirar fundo". Juro que a sala vai deixar de ser o meu escritório!

Índice

| | |
|--|----|
| Resumo | 3 |
| Abstract..... | 4 |
| Introdução | 5 |
| Artigo a submeter à revista <i>The Wilson Bulletin</i> | 11 |
| Abstract | 11 |
| Introduction..... | 11 |
| Methods..... | 13 |
| Study area | 13 |
| Nest monitoring | 14 |
| Aromatic Plants' survey | 14 |
| Statistical Analyses | 15 |
| Results..... | 15 |
| Aromatic Species in the Study Areas | 15 |
| Aromatic Species in the nests | 16 |
| Use vs. availability..... | 16 |
| Aromatic plants vs. survival rate of Blue tits | 17 |
| Discussion | 18 |
| Acknowlegments | 19 |
| References | 19 |
| Considerações finais..... | 23 |
| Referências Bibliográficas | 24 |
| Anexo 1..... | 26 |
| Anexo 2..... | 27 |

Resumo

Plantas aromáticas em ninhos de Chapim-azul – a “hipótese de protecção do ninho” revisitada.

A “hipótese de protecção do ninho” é uma das teorias que explica porque algumas aves utilizam plantas aromáticas no ninho: as plantas aromáticas possuem compostos secundários que matam ou repelem os parasitas que habitam o ninho de algumas aves com o intuito de se alimentarem das crias.

Para confirmar este comportamento, 26 caixas-ninho ocupadas por Chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) foram estudados durante a época de reprodução de 2009 no Parque Florestal de Monsanto, tendo as plantas aromáticas neles presentes sido identificadas. Foi efectuado um estudo da flora aromática com o intuito de inventariar e identificar as espécies existentes nas áreas de nidificação.

No final, os resultados do estudo permitiram verificar que ninhos com plantas aromáticas apresentavam taxas de sobrevivência superiores às registadas nos ninhos sem plantas aromáticas; as 2 plantas aromáticas mais influentes nas taxas de sobrevivência das crias foram *Calamintha baetica* e *Dittrichia viscosa*.

Abstract

Aromatic plants in Blue tit nests – the ‘nest protection hypothesis’ revisited

The ‘nest protection hypothesis’ is a theory that explains why some birds use aromatic plants in their nests – these plants have secondary compounds that kill or repel parasites that live in the nests with the purpose of feeding on the nestlings.

To confirm this behavior, 26 nest boxes occupied by Blue tits (*Cyanistes caeruleus*) were studied during the breeding season of 2009 at ‘Parque Florestal de Monsanto’ and aromatic plants found in the nests were identified. Aromatic plants present in the study area were also identified.

In the end, the results show that nests with aromatic plants had higher survival rates than nests without aromatic plants; the 2 aromatic plant species that were the most influential in the nestlings’ survival rates were *Calamintha baetica* and *Dittrichia viscosa*.

Introdução

Os ninhos construídos pelas aves reflectem não só a biologia de cada espécie, mas também o seu comportamento (Hansell, 2000). A sua construção requer um dispêndio considerável de energia na procura dos diferentes materiais e no seu transporte até ao ninho (Collias e Collias, 1984). O uso de materiais diversos responde a necessidades de conforto para os progenitores e para as crias. Destaca-se o uso de materiais de origem animal, inorgânicos e, mais importantes e variados, materiais de origem vegetal (Hansell, 2000).

A vegetação utilizada pode ser o suporte físico do ninho (material estruturante), o principal componente da matriz do ninho (material de enchimento; figura 1) ou apenas adicionada em pequenas porções com objectivos específicos.



Figura1 – Caixa-ninho ocupada por Carriça (*Troglodytes troglodytes*) no Parque Florestal de Monsanto em Abril de 2009 (foto da autora)

Algumas aves, durante a época de nidificação, adicionam ao seu ninho plantas aromáticas. Wimberger (1984) referiu que as plantas aromáticas seriam colocadas nos ninhos com o objectivo único de repelir ou matar ectoparasitas que se encontram nos ninhos durante a época de nidificação. Clark (1991) formulou uma explicação para este comportamento que designou como “hipótese de protecção do ninho” ou ‘*Nest Protection Hypothesis*’ (doravante NPH). Esta explicação baseia-se no pressuposto de que as plantas aromáticas utilizadas possuem compostos secundários voláteis que funcionam como repelentes olfactivos, ou toxinas, que afastam eventuais insectos dos ninhos onde são colocadas. No entanto, várias outras hipóteses são consideradas para explicar o comportamento de certas aves ao adicionar aos ninhos plantas sem função estruturante:

- “hipótese da estética do ninho” ou ‘*Aesthetic Hypothesis*’, relacionada com a estética do ninho,

- “hipótese da camuflagem do ninho” ou ‘*Crypsis Hypothesis*’, relacionada com a camuflagem dos ninhos,
- “hipótese da perda de água” ou ‘*Water Loss Hypothesis*’ que sugere que as plantas adicionadas mantêm a humidade do ninho,
- “hipótese do ensombramento” ou ‘*Shading Hypothesis*’ que sugere que certas plantas conferem um maior período de sombra,
- “hipótese do isolamento térmico do ninho” ou ‘*Nest Insulation Hypothesis*’ relacionada com o facto de algumas plantas não permitirem a entrada ou saída de calor do ninho (Bandura *et al.*, 1994),
- “hipótese do cortejamento” ou ‘*Courtship Hypothesis*’ que defende que algumas aves utilizam as plantas dentro dos ninhos como meio de atrair parceiros reprodutores e
- “hipótese do efeito de droga” ou ‘*Drug Hypothesis*’ (doravante DH) que sugere que a adição de plantas aos ninhos, tem um efeito positivo no crescimento e condição corporal das crias independentemente da presença de ectoparasitas nos ninhos (Mennerat, 2008; Mennerat *et al.*, 2009).

O Chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*) é uma pequena ave que demonstra este comportamento e que já foi alvo de variados estudos. Pertence à ordem dos Passeriformes, família Paridae e é residente em Portugal, onde nidifica durante os meses de Março a Julho (Rabaça, 2008). Com o estatuto de conservação “Pouco Preocupante” (LC) (Cabral *et al.*, 2005), é uma espécie com uma ampla distribuição por toda a Europa e Norte de África. É uma nidificante cavernícola, isto é, constrói o seu ninho em pequenas cavidades existentes nas árvores, podendo recorrer a caixas-ninho colocadas propositadamente para esse efeito (figura 2).

Relativamente aos ninhos de Chapim-azul, são de destacar 4 estudos:

Lambrechts e Dos Santos (2000), num estudo com 111 caixas-ninho, verificaram que, após a remoção de plantas aromáticas (*Achillea ligustica*, *Cistus creticus*, *Helichrysum italicum*, *Lavandula stoechas* e *Mentha* sp.) dos ninhos, as aves voltavam a colocar plantas aromáticas da mesma espécie ou de espécies diferentes daquelas que se encontravam no ninho, 1 a 5 dias depois da remoção. Observaram também que estas aves procuram ter no ninho uma mistura das diferentes plantas aromáticas com o objectivo principal de aumentar a eficiência na protecção devido a um forte mistura de odores.



Figura 2 – *Pulli* de Chapim-azul (± 15 dias) em caixa-ninho no Parque Florestal de Monsanto (Maio de 2009, foto da autora)

Lafuma *et al.* (2001), utilizaram 6 amostras iguais de ninhos e, em 4 dessas amostras, adicionaram 1g de apenas uma de 4 espécies de plantas aromáticas (*Achillea ligustica*, *Helichrysum italicum*, *Lavandula stoechas* e *Cistus creticus*), a outra amostra adicionaram uma mistura das 4 plantas perfazendo 1g e a outra apenas 1g de erva e estudaram o efeito que cada uma das experiências tinha nas populações do mosquito *Culex pipiens*. Observaram que nas amostras de ninhos onde as plantas foram adicionadas individualmente, não se verificou o efeito repelente nas populações de mosquito, com exceção dos ninhos onde foi adicionada *L. stoechas*; na amostra de ninhos onde se utilizou a mistura das 4 plantas, verificaram uma diminuição das populações de mosquito e nos ninhos onde se adicionou apenas erva, não se verificaram alterações nas populações de mosquito.

Mennerat *et al.* (2009a) estudaram o efeito que a presença de plantas aromáticas tem no crescimento e condição corporal das crias. Para isso adicionaram 0,2g de cada uma de 5 espécies diferentes (*Lavandula stoechas*, *Helichrysum italicum*, *Calamintha nepeta*, *Achillea ligustica* e *Pulicaria odora*), de 2 em 2 dias – entre o 5º e o 14/15º dia das crias – a uma amostra de 80 ninhos. Aos restantes, foi adicionada 1g de musgo. Como resultado, verificaram que as crias dos ninhos com plantas aromáticas tinham níveis de hematócrito mais elevados e as penas se desenvolviam mais rapidamente relativamente às crias dos ninhos onde tinha sido adicionado apenas musgo.

Mennerat *et al.* (2009b) estudaram a importância que 3 factores teriam na selecção do material aromático nos ninhos – disponibilidade das plantas nos territórios, experiência da fêmea e identidade da fêmea (i.e. preferência individual). Num estudo com um total de 115 ninhos, concluíram que tanto o território como a experiência têm pouca influência na escolha destas plantas;

pelo contrário, a identidade da fêmea parece ser decisiva – observaram ainda que as preferências da fêmea ao longo de uma época de reprodução e durante várias épocas de reprodução atravessa ciclos, ou seja, de tempos a tempos, volta a utilizar as plantas que utilizou anteriormente.

Este comportamento não é, porém, exclusivo de Chapim-azul. Gwinner (1997) estudou-o em Estorninho-comum (*Sturnus vulgaris*) e concluiu que a adição de plantas aromáticas aos ninhos efectuada pelos machos (ao contrário do que acontece com Chapim-azul, em que são as fêmeas que as colocam nos ninhos – ver Bandura *et al.*, 1995) poderá estar relacionada com a corte e o acasalamento, mas também com a defesa das crias relativamente a ectoparasitas (Gwinner *et al.*, 2000). Neste último trabalho, os autores estudaram o efeito que plantas aromáticas adicionadas por estorninhos aos seus ninhos teriam na redução de parasitas presentes nos ninhos (NPH) e no desenvolvimento e condição corporal das crias (DH). Para isso, substituíram 148 ninhos naturais de estorninhos por ninhos artificiais – metade com plantas aromáticas e outra metade com ervas. No final, não obtiveram resultados que lhes permitissem tirar conclusões relativamente à NPH mas, relativamente à DH, observaram que as crias dos ninhos com plantas aromáticas, pesavam mais e tinham níveis de hematócrito superiores, o que permitia o enquadramento dos resultados pela DH.

Ontiveros *et al.* (2007) estudaram este comportamento em Águia de Bonelli (*Hieraaetus fasciatus*) utilizando uma semi-amostra de 11 ninhos em 13 anos consecutivos, retiraram cerca de 1,5kg de material de cada ninho e analisaram o peso relativo de cada espécie vegetal presente nessa amostra, assim como o número total de ectoparasitas nela contido. *Pinus pinaster* e *Pinus halepensis* foram as plantas aromáticas encontradas em maior quantidade, ao passo que os únicos insectos encontrados nos ninhos destas aves pertencem ao género *Protocalliphora*, da família *Calliphoridae*. No final, observaram que a uma maior percentagem de *Pinus pinaster* elou *Pinus halepensis* nos ninhos correspondia uma menor quantidade de parasitas nos ninhos e um maior sucesso reprodutor dos casais.

Shutler e Campbell (2006) adicionaram *Achillea millefolium* (Mil-em-rama) a ninhos de Andorinha-das-árvores (*Tachycineta bicolor*) com o intuito de verificar que influência teria na população de pulgas (*Ceratophyllus idius*) dos ninhos. Colocaram *A. millefolium* em 23 ninhos de 2 em 2 dias a partir do dia em que o primeiro ovo foi posto e nos restantes 44 ninhos apenas tocaram no material do ninho, sem colocar a planta aromática. No final, verificaram que o número de pulgas nos ninhos sem a planta era quase o dobro do que existia em ninhos com a planta. Embora as andorinhas não coloquem activamente

plantas aromáticas nos seus ninhos, os resultados deste trabalho constituem um contributo importante para a explicação dos comportamentos das aves que o fazem.

São objectivos deste estudo (1) verificar se Chapins-azuis a nidificar em caixas-ninho, incorporam plantas aromáticas nos seus ninhos em quantidades que sugiram uma clara preferência por essas plantas e (2) identificá-las e (3) determinar qual a sua relação com a taxa de sobrevivência das crias, quer quando a sua presença é considerada em conjunto, quer com cada uma das espécies em particular.

Para a concretização destes objectivos, recorreu-se ao estudo de um grupo de caixas-ninho colocado no Parque Florestal de Monsanto em Lisboa (doravante PFM). Este parque, com um total de 900ha de mata diversa, foi criado oficialmente em 1936 e florestado nos anos seguintes. Apresenta áreas dominadas por carvalhais (*Quercus robur*, *Q. suber*, *Q. coccifera*, *Q. rotundifolia*, *Q. faginea* and *Q. pyrenaica*), e outras dominadas por pinhais de *Pinus pinea* e *P. halepensis* com *Eucalyptus globulus*.

O clima do local de estudo é temperado marítimo, e caracteriza-se por apresentar fraca amplitude térmica, devido à proximidade do Oceano Atlântico, e escassez de chuvas no verão. Sujeita a temperaturas nunca abaixo dos 0°C, e raramente atingindo temperaturas acima dos 40°C, a região em que o local de estudo se encontra tem uma temperatura média anual de 17°C e a precipitação anual varia entre os 600 e os 800mm (Câmara Municipal de Lisboa, 2010).

Foram seleccionadas 4 áreas no PFM – 2 dominadas por *Quercus* spp. (Anexo 1) e outras 2 dominadas por *Pinus pinea* (Anexo 2). Para efeitos estatísticos, as 2 áreas de cada um dos habitats, foram agrupadas, sendo denominadas por área Q e área P, respectivamente.

Um total de 121 caixas-ninho foi colocado em cada uma destas 4 áreas, penduradas em ramos de árvores (entre 3-6m de altura) e distribuídos regularmente numa malha de c. 25 m x 25 m.

Durante a época de reprodução de 2009, as caixas-ninho situadas nestas áreas foram monitorizadas com o objectivo de identificar a espécie que ocupava o ninho e, em ninhos de Chapim-azul, determinar o tamanho da postura, número de crias nascidas e número de crias voadoras. Simultaneamente, a flora aromática de cada uma destas áreas foi identificada e inventariada.

No final da época de reprodução, os ninhos de Chapim-azul foram guardados individualmente em sacos herméticos e estudados em laboratório (figura 3). As

plantas aromáticas encontradas nos ninhos foram retiradas e identificadas, recorrendo a características morfológicas e ao cheiro particular que cada uma das plantas apresenta.



Figura 3 – Ninho de Chapim-azul retirado de uma caixa-ninho do Parque Florestal de Monsanto (época de reprodução de 2009, foto da autora)

Este estudo esteve inserido no Projecto “Aqui há ninho!”, desenvolvido pela Divisão de Educação e Sensibilização Ambiental, no âmbito do Programa de Promoção da Biodiversidade da Câmara Municipal de Lisboa, integrando um projecto mais global de monitorização de ninhos artificiais em Lisboa.

Artigo a submeter à revista *The Wilson Bulletin*

(Impact Factor: 0.470. 2008 ISI Journal Citation Reports® Rankings: 14/18 – Ornithology)

Aromatic plants in Blue tit nests – the ‘nest protection hypothesis’ revisited

Pires¹, B.A., Belo², A.F. & Rabaça³, J.E.

¹Av. 5 de Outubro, 267 2ºDto 1600-035 Lisboa; barbara.afonso83@gmail.com

²Laboratory of Botany and ³LabOr-Laboratory of Ornithology, Dept. of Biology & ICAAM – Institute of Mediterranean Agricultural and Environmental Sciences, University of Évora, 7002-554 Évora

Abstract

The Nest Protection Hypothesis is one theory that explains why some birds add aromatic plants to their nests. This theory suggests that the function of these plants is to repel or kill ectoparasites that occupy bird nests in order to parasite the *pulli*. This procedure has been described in several species namely in the Blue tit. We have studied a total of 26 Blue tit nests in 2 different habitats (*Quercus* spp. and *Pinus pinea* forested areas) in an urban park in Lisbon. Aromatic plants present in the nests were identified and compared with their abundance in the study areas. Results showed that: (1) all aromatic plants found in the nests were used more than expected from their availability in the study areas, (2) the presence of aromatic plants in the nests increased survival rates in both habitats and (3) 2 aromatic plants species – *Calamintha baetica* and *Dittrichia viscosa* – were the most influential to survival rate results.

Introduction

Structures built by animals such as nests, dams, webs or burrows reflect their behavior, organization and functional design. Among those, bird nests are thought to be the role model for other vertebrate built structures. In most cases bird nests are a combination of different materials interlaced with each other, independently of the type of nest considered. The building behavior is species specific and often allows the identification of nest owners (Hansell, 2000).

During the breeding cycle some birds use in their nests fragments of fresh plants different from those used for the nest cup construction. For example, raptors include in their nests fragments of resinous coniferous trees and shrubs (Dykstra *et al.*, 2009) and passerines use herbaceous and shrubby species (Wimberger, 1984; Lambrechts *et al.*, 2000). These fragments are incorporated inside the nest cup (Ontiveros *et al.*, 2007) and several hypotheses have been presented to explain this procedure: aesthetic hypothesis, nest-crypsis hypothesis, water loss hypothesis, shading hypothesis, nest insulation hypothesis, nest protection hypothesis, courtship hypothesis and drug hypothesis (e.g. Bandura *et al.*, 1995; Mennerat *et al.*, 2009).

In several bird species, including cavity-nesters, the 'nest protection hypothesis' (hereafter NPH) seems to be the most plausible theory to explain that behavior. This hypothesis suggests that sprigs of aromatic plants are added to the nest in order to reduce ectoparasite loads due to the presence of volatile secondary chemical compounds (Wimberger, 1984), namely terpenes (Camacho *et al.*, 2000). This hypothesis stands for most species, but should be especially focused in hole-nesting birds which may reuse the same cavity for several breeding attempts, thus increasing the probability of detrimental ectoparasites attack. These chemical compounds are responsible for the very peculiar odor of some plants and are very abundant in plants of some botanical families like *Pinaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae* and *Rutaceae* (Ibrahim *et al.*, 2001).

Among Western Palearctic birds, evidence on this trait has been gathered mostly in European starlings (*Sturnus vulgaris*) (e.g. Gwinner and Berger, 2005) and in Blue tits (e.g. Lambrechts and Dos Santos, 2000).

Blue tits usually build their nesting cup with moss, twigs, grasses and a range of other materials like spider webs, hairs of different animals and feathers (Harrison, 2002). Once the first egg is laid, females start to add fresh aromatic plant material to their nest (Bandura *et al.*, 1995) intensifying this behavior with the progress of the reproductive cycle (Lambrechts *et al.*, 2000). Normally they bring fresh material at dusk, suggesting a protection against nocturnal insects (Lafuma *et al.*, 2001).

In studies on Blue tit nests, Lambrechts and Dos Santos (2000) found that they use up to five plants with distinct odors, either observed in the Blue tits territory or not, indicating that they can travel to find plants that give them protection. The same study reported an experiment in which fresh plants added by birds to the nest were artificially removed. In result, the authors were able to observe that within 1 to 5 days after the removal, Blue tits brought new fresh plants to the nests.

Other studies on different bird species were also conclusive in relation to the use of certain aromatic plants. Shutler and Campbell (2007) incorporated *Achillea millefolium* in Tree Swallows nests to test its effect on parasite loads. With 23 nests with *Achillea millefolium* and 44 control nests, they were able to conclude that the presence of the aromatic plant reduced significantly the number of fleas found in the nests, but did not have a significant effect on breeding success.

Gwinner *et al.* (2000), in their study on European Starling – *Sturnus vulgaris* – nests, found no difference in ectoparasite loads in nests with aromatic plants and nests with grass (control). However, they were able to observe that in nests with aromatic plants, nestlings weighted more and had higher haematocrit levels than those of control nests.

Clark (1991), also studying starling nests, found that if aromatic plants were removed from the nests, mite populations increased significantly.

Clark and Mason (1988) explained that, even if the numbers in which ectoparasites are found in the nests will not decrease with the presence of aromatic plants, aromatic plants' volatile compounds can affect ectoparasite feeding.

As Bernd Heinrich said, nests composition “mean the difference between reproductive success and failure” (Heinrich, 2008). Their construction in the beginning of reproductive season has only one purpose: to create the young in a protecting and healthy environment.

The goals of our study are (1) to determine if Blue tits breeding in nest boxes use aromatic plants in their nests more than it would be expected according to its availability in the study area and, if so, (2) which species are used. If aromatic plants are better represented in nests than in nearby fields, eventually pointing to a selective plant search, an additional objective can be established – (3) to determine if aromatic plants used in the nests are correlated with Blue tits survival rate, in accordance with the NPH.

Methods

Study area

The study was carried out in 'Parque Florestal de Monsanto', Lisbon, the largest park in the city covering a surface of c. 900ha. The park has extended forested areas with *Quercus* spp. (*Q. robur*, *Q. suber*, *Q. coccifera*, *Q. rotundifolia*, *Q. faginea* and *Q. pyrenaica*), *Pinus pinea*, *Pinus halepensis* and *Eucalyptus*

globulus. The average highest temperature varies from 14.5°C in January to 27.8°C in July and the average lowest temperature from 8.1°C in January to 18.1°C in July. Rainfall varies from 6.1mm in July to 121.8mm in December (Climatological normals from 1971-2000 in IM).

Four study stands were selected: two dominated by *Quercus* spp. with a total surface of 16ha, and two dominated by *Pinus pinea* with a total surface of 15ha. For data treatment we grouped the two stands of each habitat and therefore we used two areas with different forested habitats (hereafter designated by Q and P, for the areas dominated respectively by *Quercus* and *Pinus* trees).

In each area, 242 nest boxes built in pine wood were placed in trees, 3 to 6 m above the ground, equally distanced from each other and oriented south or east to avoid the dominant moderate-strong winds from north and west. In some points, nest boxes could not be placed due to the local constraints (absence of trees, ponds, etc). The resulting network arrangement of nest boxes was of 1 nest box per 25 x 25 m square.

Nest monitoring

During the breeding season of 2009, nest boxes occupied by Blue tits were visited weekly from March 1st to July 3rd in order to determine (1) clutch size and (2) hatching rate (the proportion (%) of eggs incubated to term that hatched), survival rate (the proportion (%) of fledglings per number of hatched eggs) and breeding success (the proportion (%) of fledglings per clutch size).

In the end of the breeding season, 26 Blue tit nests were removed from nest boxes, individually sealed in plastic bags and carefully analyzed in laboratory. Aromatic plants' fragments found in the nests were identified through morphological features or scent, with the purpose to compare their percentage of occurrence in the nests with their occurrence in the nest surrounding habitats.

Aromatic Plants' survey

On the scope of this study we considered aromatic plants all those with a notorious odor, that is, those rich in volatile compounds (Clark and Mason, 1985; Gwinner, 1997).

In order to quantify aromatic plants presence, a line transect was applied coincident with the E-W lines of the nest network across the study areas; throughout these lines, plants visible for each side of the line were noted in consecutive sample units of 50 x 50 m (70 in each area).

Statistical Analyses

We used Wilson's 95% CI (following Newcombe, 1998) to compare the use of aromatic species in Blue tit nests with their availability in the study areas. The CI's for the proportion of nests using a given aromatic plant species (use) were compared to the proportion of sample units containing that species (availability). Similarly to Dykstra *et al.* (2009), we considered that a given aromatic species was used more or less than expected if the proportion of sample units containing that species was respectively above or below the 95% CI.

Results

In all, we recorded 26 nest boxes occupied by Blue tits (33.8% of all nest boxes occupied) in both areas; 17 in Q area and 9 in P area. Clutch size and breeding parameters are indicated in Table 1.

Table 1 – Breeding parameters of Blue tit population breeding in nest boxes in 'Parque Florestal de Monsanto'. Q – *Quercus* spp. dominated area (n=17 nests); P – *Pinus pinea* dominated area (n=9 nests).

| Habitats | Q | P |
|------------------|-----------|-----------|
| Hatching Rate | 66.5±30 | 82±32.8 |
| Survival Rate | 61.3±38.9 | 69.2±31.9 |
| Breeding Success | 39.3±27.9 | 64±31.4 |
| Clutch size | 6.2±1.6 | 5.7±1.6 |
| Eggs hatched | 4.4±2.4 | 5±2 |
| Chicks fledged | 2.5±2 | 3.9±2 |

Aromatic Species in the Study Areas

In all, 16 and 12 aromatic species were identified in Q and P areas (Table 2). In Q area *Lamiaceae* is the best represented family with 6 species belonging to five genera. In P area, *Asteraceae* and *Cupressaceae* were the best represented families, with two species each. Five species belonging to five other families were also present in both areas. The recorded species are Mediterranean autochthonous species, with the exception of *Eucalyptus camaldulensis*.

Table 2 – Aromatic plant species present in pine (P) and oak (Q) study areas in ‘Parque Florestal de Monsanto’.

| Family | Species | Area |
|-----------------------|--|------|
| <i>Apiaceae</i> | <i>Foeniculum vulgare</i> Miller | P |
| <i>Asteraceae</i> | <i>Achillea ageratum</i> L. | Q |
| | <i>Dittrichia viscosa</i> W. Greuter | P |
| | <i>Phagnalon saxatile</i> L. Cass. | P |
| <i>Caprifoliaceae</i> | <i>Lonicera periclymenum</i> L. | Q, P |
| <i>Cistaceae</i> | <i>Cistus psilosepalus</i> Sweet | Q |
| | <i>Cistus salviifolius</i> L. | Q |
| <i>Clusiaceae</i> | <i>Hypericum perforatum</i> L. | Q, P |
| <i>Cupressaceae</i> | <i>Juniperus phoenicia</i> L. | P |
| | <i>Juniperus oxycedrus</i> L. | P |
| <i>Geraniaceae</i> | <i>Geranium robertianum</i> L. | P |
| <i>Lamiaceae</i> | <i>Calamintha baetica</i> Boiss. & Reuter | Q, P |
| | <i>Lavandula dentata</i> L. | Q |
| | <i>Lavandula pedunculata</i> (Miller) Cav. | Q |
| | <i>Origanum virens</i> Hoffmanns & Link | Q |
| | <i>Rosmarinus officinalis</i> L. | Q |
| | <i>Thymus</i> sp. | Q |
| <i>Myrtaceae</i> | <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh. | P |
| | <i>Myrtus communis</i> L. | Q |
| <i>Pinaceae</i> | <i>Pinus halepensis</i> Miller | Q |
| | <i>Pinus pinea</i> L. | Q, P |
| <i>Rutaceae</i> | <i>Ruta chalepensis</i> L. | Q |
| <i>Thymelaeaceae</i> | <i>Daphne gnidium</i> L. | Q, P |

Aromatic Species in the nests

Fragments from aromatic plants found in the nests represented a small part of the nest material and were placed in the nest cup stacked between other built materials (B.A.Pires pers. obs.). We recorded aromatic fragments in 13 nests on the Q area (76.47% of the analyzed nests) and 3 nests on the P area (33.33%). The average number of aromatic plant species was 1.3 ± 0.9 (SE) per nest in Q area and 0.3 ± 0.5 (SE) in P area.

Use vs. availability

In Q area 7 aromatic plant species were used in the nests, but in P area nests' only one species was detected.

Not all aromatic species detected in the study areas were recorded in the nests. Moreover, we observed that some aromatic plant fragments presented in the nests did not occur in the nests' surrounds. Taking one nest for example, in which we observed *Calamintha baetica* and *Origanum virens*: the nearest spot with each species in the study area was observed at 80 and 53 m, respectively. We also found fragments in the nests from *taxa* not detected in sampling units (*Dittrichia viscosa* in Q area and *Mentha* sp). Results show that the Wilson's 95% CI assessment indicate that all the aromatic species identified in nest material were used by Blue tits more than expected according to its availability in both Q and P areas (Table 3).

Table 3 – Aromatic species used in nests of Blue tits breeding in Q and P areas in 'Parque Florestal de Monsanto' vs. aromatic species availability on nesting habitats. Assessment is based on Wilson's 95% CI, comparing the percentage of nests with fragments of each aromatic species (Use) with the percentage of sampling units with that species (Availability).

| Area | Aromatic plant species | Use | | Availability | Use vs. Availability |
|------|----------------------------|-------|---------------|--------------|----------------------|
| | | Mean | Wilson 95% CI | | |
| Q | <i>Cistus salviifolius</i> | 5.88 | 5.87 - 6.15 | 2.86 | More |
| | <i>Cistus psilosepalus</i> | 5.88 | 5.87 - 6.15 | 1.43 | More |
| | <i>Origanum virens</i> | 5.88 | 5.87 - 6.15 | 4.29 | More |
| | <i>Dittrichia viscosa</i> | 29.41 | 28.29 - 29.94 | 0.00 | More |
| | <i>Mentha</i> sp. | 11.76 | 11.73 - 12.11 | 0.00 | More |
| | <i>Lavandula dentata</i> | 23.53 | 23.43 - 24.00 | 1.43 | More |
| | <i>Calamintha baetica</i> | 47.06 | 46.80 - 47.75 | 4.29 | More |
| P | <i>Dittrichia viscosa</i> | 33.33 | 33.21 - 33.98 | 5.71 | More |

Aromatic plants vs. survival rate of Blue tits

We have grouped the survival rates (SR) from the studied nests in two classes: $SR < 50\%$ and $SR \geq 50\%$. When we tried to relate the presence/absence of aromatic plants with SR, we observed that in the Q area and for $SR < 50\%$, 50% of the nests had aromatic plants and 50% did not have aromatic plants while for $SR \geq 50\%$ category, 84.6% of the nests had aromatic plants and 15.4% of the nests did not. In P area, all the nests with $SR < 50\%$ did not have aromatic plants; for $SR \geq 50\%$, 37.5% of the nests had aromatic plants and 62.5% of the nests did not.

From other perspective, we observed that in the Q area, while 50% of the nests without aromatic plants have $SR \geq 50\%$, this percentage rises to 85% when aromatic plants are present in nests. In P area, $SR \geq 50\%$ in all nests with

aromatic plants, but this percentage diminishes to 84% when aromatic plants are not a part of the nest.

When we tried to relate each aromatic species detected in nests with SR classes, we observed that, for $SR < 50\%$, *Calamintha baetica* was the most used species in the Q area (17.7%). Other six taxa were used in this area but in low proportions (*Dittrichia viscosa*, *Lavandula dentata*, *Mentha* sp., *Cistus salviifolius*, *Cistus psilosepalus* and *Origanum virens*). For $SR \geq 50\%$, *Dittrichia viscosa* (29.4%), *Calamintha baetica* (35.3%) and *Lavandula dentata* (17.7%) were the most used species in Q area and *Mentha* sp. and *Origanum virens* were detected in low proportions. In P area none aromatic species were used in nests with $SR < 50\%$ and for $SR \geq 50\%$ *Dittrichia viscosa* was the only used aromatic species (33.3%).

Further more, when we tried to correlate each aromatic species with the different SR values for each nest, we observed that, in P area, nests with higher SR (above 80%) do not have aromatic species and the nests with aromatic species presented SR results of 60, 67 and 75. In Q area, we observed that *Dittrichia viscosa* is a determinant species, since it is present in nests with higher SR (above 80%); *Calamintha baetica* and *Lavandula dentata* are the most homogeneous species, since they are present in nests with SR below and above 50%.

Discussion

Aromatic plants found in our Blue tit nests represented a small proportion of the plants found in the study areas, suggesting a non-random use of those species, what is similar to the findings of Petit *et al.* (2002) and Mennerat *et al.* (2009). All the aromatic species found in nests, when related to its availability on the study area, were used more than expected, suggesting that one explanation can be given: as previously said, Blue tits travel outside the territory to find plants that give them protection as already demonstrated by Lambrechts *et al.* (2000).

Dried needles of *Pinus pinea* present in the nests were not considered as an aromatic plant because our personal observations of the nests led us to consider that these needles were used as a structural material. However, a second function of pine needles as aromatic fragments due to the richness of the Pine family in terpenes can not be ignored. Macchioni *et al.* (2002), on their study with different species of the Pine family, found that 58.9 to 62.5% of the essential oils of three parts of *Pinus pinea* (needles, branches and cones), is of

limonene, a compound known to decrease malaria parasite progression (Moura *et al.*, 2001) and to reduce fleas and ticks in domestic animals (Hinkle, 2010).

Dittrichia viscosa (both in Q and P areas and for SR \geq 50%) and *Calamintha baetica* (only in Q area but in both SR classes) were the most used species in Blue tit nests. This major use of both species in the nests over other aromatic plants available might be explained due to their richness in terpenes, a chemical compound with insecticidal properties: *Dittrichia viscosa*, for instance, has in its constitution sesquiterpenes and monoterpenes, namely eucalyptol, working as insecticide or insect repellent, bactericide and fungicide (Camacho *et al.*, 2000; Ibrahim, 2001).

Lavandula dentata was far used in Blue tit nests than expected based on its availability. This Mediterranean shrubby species has an intense fragrance produced by oils rich in beta-pinene (Bousmaha *et al.*, 2005), a chemical compound known as a potent insect repellent (Freeman and Beattie, 2008).

In conclusion, our results show that Blue tits breeding in 'Parque Florestal de Monsanto' do use aromatic plants in its nests and this use does not seem to be dependent on the plant species availability near the nest, although a lower trigger criteria for noting down plants abundance would be desirable. The aromatic plants they use are rich in chemical compounds known for their insect repellent properties. Our work suggests a direct relation between the presence of aromatic plants in nests and breeding performance of Blue tits. We also conclude that *Calamintha baetica* and *Dittrichia viscosa* are the species which stronger influenced positively survival rates, although other factors can play an important role.

We believe that the results presented in our study sustain the NPH.

Acknowledgments

I would like to thank Câmara Municipal de Lisboa – Divisão de Educação e Sensibilização Ambiental for allowing me to do this study in Parque Florestal de Monsanto. My field work colleague Rita Moreira.

References

Afonso, A. and Alpizar-Jara, R. 2006. Amostragem por distâncias adaptativa: combinação de transectos lineares com pontuais – In: Canto, L. C., Martins, E. G., Rocha, C., Oliveira, M. F., Leal, M. M. e Rosado, F. (eds). *Ciência Estatística*, pp. 163-172. Edições SPE.

Bandura, J., Blondel, J., Wilde-Lambrechts, H. and Perret, P. 1995. Why do female Blue tits (*Parus caeruleus*) bring fresh plants to their nests? *J. Orn.* 136: 217-221.

Bousmaha, L., Bekkara, F. A., Tomi, F and Casanova, J. 2005. Advances in the chemical composition of *Lavandula dentata* L. essential oil from Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 17 (3): 292-295.

Camacho, A., Fernández, A., Fernández, C., Altarejos, J. and Laurent, R. 2000. Composition of the essential oil of *Dittrichia viscosa* (L.). W. Greuter. *Rivista Italiana EPPOS* 29: 3-8.

Câmara Municipal de Lisboa (CML); Parque Florestal de Monsanto; available at <http://lisboaverde.cm-lisboa.pt/>; accessed in 12.1.2010.

Clark, L. 1991. The nest protection hypothesis: the adaptive use of plant secondary compounds by European starlings. – In: Loye, J. and Zuk, M. (eds). *Bird-parasite interactions: ecology, evolution and behavior*. Oxford, Oxford University Press, pp. 205-221.

Clark, L. and Mason, J. R. 1985. Use of nest material as insecticidal and anti-pathogenic agents by the European starling. *Oecologia*, **67**, 169–176 (abstract only).

Clark, L. and Mason, J. R. 1988. Effect of biological active plants used as nest material and the derived benefit to starling nestlings. – *Oecologia* 77: 174-180.

Dykstra, C., Hays, J. and Simon, M. 2009. Selection of fresh vegetation for nest lining by Red-shouldered Hawks. *The Wilson Journal of Ornithology* 121 (1): 208-211.

Freeman, B. C. and Beattie, G. A. 2008. An overview of plant defences against pathogens and herbivores. *The Plant Health Instructor*. available at <http://www.apsnet.org/education/IntroPlantPath/Topics/plantdefenses/>. accessed in 22.3.2010.

Gwinner, H. 1997. The function of green plants in nests of European starlings *Sturnus vulgaris*. *Behaviour*, 134: 337-351 (Abstract).

Gwinner, H., Oltrogge, M., Trost, L. and Nienaber, U. 2000. Green plants in starling nests: effects on nestlings. *Anim. Behav.* 59: 301-309

Hansell, M. 2000. *Bird Nests and Construction Behavior*; Cambridge University Press; 280p. Cambridge.

Harrison, C. 2002. Collins Field Guide – Bird Nests, Eggs and Nestlings of Britain and Europe. Cambridge. P. 416-417

Heinrich, B. 2008. The allure of eggs and nests. Introduction p. 1-6. In: Purcell, R., Hall, L. and Corado, R. 2008. Egg and Nest. The Belknap Press of Harvard University Press. 222p.

Hinkle, N. 2010. Animals: Pets (Companion animals) External Parasite Control – Georgia Pest Management Hand Book. The University of Georgia – College of Agricultural and Environmental Sciences; available at <http://www.ent.uga.edu/pmh/>. accessed in 3.02.2010.

Ibrahim, M., Kainulainen, P., Aflatuni, A., Tiilikkala and K., Holopainen, J. 2001. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. Agricultural and Food science in Finland 10:243-259.

Instituto de Meteorologia (IM); Climatological normals; available at <http://www.meteo.pt/pt/oclima/normais/>; accessed in 10.2.2010.

Lafuma, L., Lambrechts, M. and Raymond, M. 2001. Aromatic plants in bird nests as a protection against blood-sucking flying insects? Behavioural Processes 56 113–120.

Lambrechts, M. and Dos Santos, A. 2000. Aromatic herbs in Corsican Blue tit nests: The 'Potpourri' hypothesis. *Acta Oecologica* 21 (3) 175–178.

Macchioni, F., Cioni, P. L., Flamini, G., Morelli, I., Maccioni, S. and Ansaldi, M. 2002. Chemical composition of essential oils from needles, branches and cones of *Pinus pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* and *P. nigra* from central Italy. *Flavour and Fragrance Journal* 18(2): 139-143.

Mennerat, A., Perret, P., Bourgault, P., Blondel, J., Gimenez, O., Thomas, D. W., Heeb, P. and Lambrechts, M. 2009. Aromatic plants in nests of Blue tits: positive effects on nestlings. *Animal Behaviour* 77 569–574.

Moura, I., Wunderlich, G., Uhrig, M., Couto, A., Peres, V., Katzin, A. and Kimura, E. 2001. Limonene arrests parasite development and inhibits isoprenylation of proteins in *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45 (9): 2553-2558.

Newcombe, R. G. 1998. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Statistics in Medicine*, 17, 857-872.

Ontiveros, D., Caro, J. and Pleguezuelos, J. M. 2007. Green plant material versus ectoparasites in nests of Bonelli's eagle. *Journal of Zoology* 274 99–104.

Shutler, D. and Campbell, A. 2007. Experimental addition of greenery reduces flea loads in nests of a non-greenery using species, the tree swallow *Tachycineta bicolor*. *J. Avian Biol.* 38:7-12.

Wimberger, P. H. 1984. The use of Green Plant Material in Bird Nests to Avoid Ectoparasites. *The Auk* Vol. 101, No. 3.

Considerações finais

A realização deste trabalho permitiu-nos observar que o comportamento de Chapim-azul relativamente à incorporação de plantas aromáticas no ninho poderá, de facto, influenciar positivamente a taxa de sobrevivência das crias – observámos que na área Q a percentagem de ninhos com $SR \geq 50\%$ aumentava de 50% em ninhos sem plantas aromáticas para 85% em ninhos com plantas aromáticas; na área P, observámos que a percentagem de ninhos com $SR \geq 50\%$ diminuía de 100% em ninhos com plantas aromáticas para 84% em ninhos sem plantas aromáticas.

Embora esta taxa possa estar relacionada com diversos factores (experiência e condição física da progenitora, disponibilidade de alimento, condições meteorológicas favoráveis, etc.), pudemos observar que ninhos com plantas aromáticas apresentavam taxas de sobrevivência superiores. Para este resultado parecem ter contribuído mais significativamente duas plantas aromáticas – *Calamintha baetica* e *Dittrichia viscosa*.

Durante o estudo dos ninhos, observou-se a presença de 2 tipos de ectoparasitas: um Dermestídeo do género *Anthrenus*, considerado inofensivo para as aves e casulos de mosca que, pela falta de indivíduos em fases larvares ou indivíduos adultos, não foi possível identificar.

Todas as espécies são importantes do ponto de vista da conservação na medida em que são parte integrante de uma cadeia trófica e a sua presença e abundância reflecte-se a montante e a jusante da posição que nela ocupam. Embora o Chapim-azul não apresente um estatuto de conservação desfavorável, a realização de estudos como o que aqui se apresenta podem contribuir para um melhor e mais consistente conhecimento dos processos comportamentais envolvidos na reprodução das aves. A nidificação é uma das fases mais importantes na vida de uma ave, porquanto pode determinar a diferença entre o sucesso e o fracasso reprodutivo (Heinrich, 2008), ou seja, entre haver renovação das populações ou diminuição dos efectivos populacionais, sendo, por isso, o estudo dos factores que a condicionam um objectivo particularmente importante no que diz respeito à conservação de uma ave.

Referências Bibliográficas

- Bandura, J., Blondel, J., Wilde-Lambrechts, H. e Perret, P. 1995. Why do female Blue tits (*Parus caeruleus*) bring fresh plants to their nests? *J. Orn.* 136: 217-221.
- Cabral, M.J., Almeida, J., Almeida, P.R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M.E., Palmeirim, J.M., Queiroz, A.L., Rogado, L. e Santos Reis, M. (eds.) 2005. Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal. Ed. ICNB, Lisboa.
- Câmara Municipal de Lisboa; Parque Florestal de Monsanto; Disponível em <http://lisboaverde.cm-lisboa.pt/>; Consultado a 4.3.2010.
- Clark, L. 1991. The nest protection hypothesis: the adaptive use of plant secondary compounds by European starlings. – In: Loye, J. e Zuk, M. (eds). *Bird-parasite interactions: ecology, evolution and behavior*. Oxford, Oxford University Press, pp. 205-221.
- Collias, N.E. e Collias, E.C. 1984. *Nest building and bird behavior*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Gwinner, H. 1997. The function of green plants in nests of European starlings *Sturnus vulgaris*. *Behaviour*, 134: 337-351 (Abstract).
- Gwinner, H., Oltrogge, M., Trost, L. e Nienaber, U. 2000. Green plants in starling nests: effects on nestlings. *Anim. Behav.* 59: 301-309
- Hansell, M. 2000. *Bird Nests and Construction Behavior*; Cambridge University Press; 280p. Cambridge.
- Heinrich, B. 2008. The allure of eggs and nests. Introduction p. 1-6. In: Purcell, R., Hall, L. and Corado, R. 2008. *Egg and Nest*. The Belknap Press of Harvard University Press. 222p.
- Lafuma, L., Lambrechts, M. e Raymond, M. 2001. Aromatic plants in bird nests as a protection against blood-sucking flying insects? *Behavioural Processes* 56 113–120.
- Lambrechts, M. e Dos Santos, A. 2000. Aromatic herbs in Corsican Blue tit nests: The 'Potpourri' hypothesis. *Acta Oecologica* 21 (3) 175–178.
- Mennerat, A. 2008. Blue tits (*Cyanistes caeruleus*) respond to an experimental change in the aromatic plant odour composition of their nest. *Behavioural Processes* 79: 189-191.

Mennerat, A., Perret, P., Bourgault, P., Blondel, J., Gimenez, O., Thomas, D. W., Heeb, P. e Lambrechts, M. 2009a. Aromatic plants in nests of Blue tits: positive effects on nestlings. *Animal Behaviour* 77 569–574.

Mennerat, A., Perret, P. e Lambrechts, M. 2009b. Local individual preferences for nest materials in a passerine bird. *PLoS ONE* 4(4): e5104.

Ontiveros, D., Caro, J. e Pleguezuelos, J. M. 2007. Green plant material versus ectoparasitas in nests of Bonelli's eagle. *Journal of Zoology* 274 99–104.

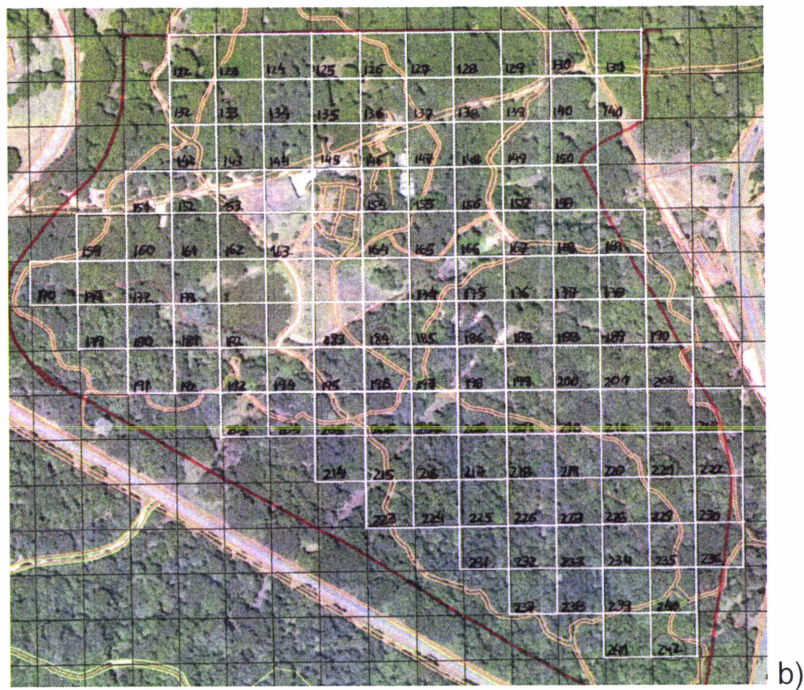
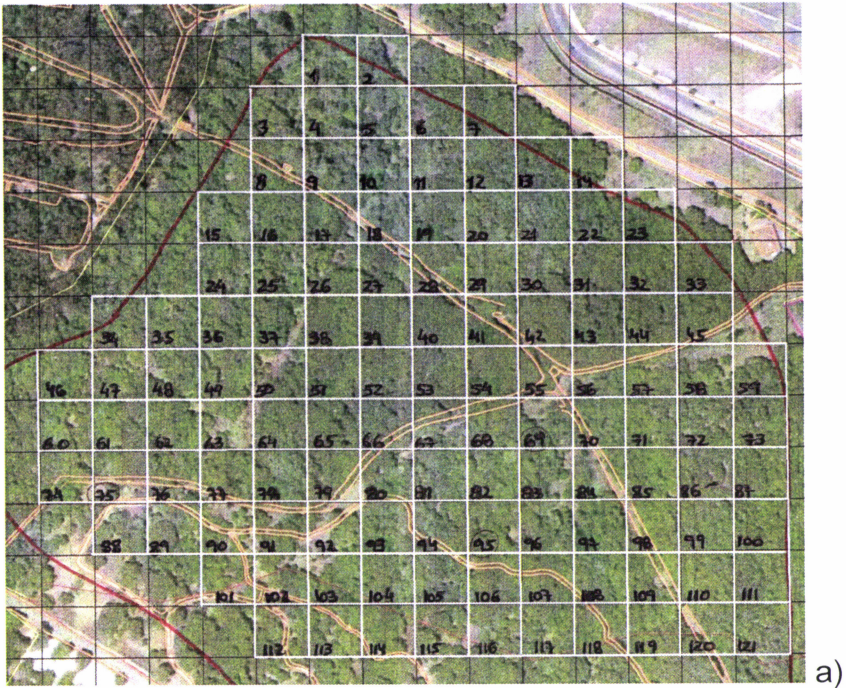
Rabaça, J.E. 2008. Chapim-azul. *In* Equipa Atlas (eds.) Atlas das Aves Nidificantes em Portugal. ICNB & SPEA. Pp: 434.

Shutler, D. e Campbell, A. 2007. Experimental addition of greenery reduces flea loads in nests of a non-greenery using species, the tree swallow *Tachycineta bicolor*. *J. Avian Biol.* 38:7-12.

Wimberger, P. H. 1984. The use of Green Plant Material in Bird Nests to Avoid Ectoparasites. *The Auk* Vol. 101, No. 3.

Anexo 1

Figura 1 – Áreas de *Quercus* spp. seleccionadas na área de estudo (a e b)



Anexo 2

Figura 1 – Áreas de *Pinus pinea* seleccionadas da área de estudo (a e b).



a)



b)